

Г.Ю. Чалый, В.П. Хейдоров

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ

Витебский государственный медицинский университет

Определены оптимальные условия и разработана простая, доступная, высокочувствительная фотометрическая методика количественного определения пентоксифиллина в индивидуальном виде и лекарственных формах, которая была апробирована в анализе таблеток, капсул и раствора для инъекций.

В ходе экспериментальных исследований было обнаружено, что диклофенак натрия при взаимодействии с гипохлорит-ионами дает специфичную реакцию образования устойчивого окрашивания. Это наблюдение послужило основой для разработки способа идентификации диклофенака натрия и пентоксифиллина в одной пробе без предварительного разделения. Предложенный способ является простым, доступным и негромоздким в выполнении, не требует наличия стандартных образцов, наличия специального дорогостоящего оборудования и реактивов; не требует для проведения анализа наличия высококвалифицированных специалистов.

Ключевые слова: идентификация, количественное определение, пентоксифиллин, диклофенак натрия.

ВВЕДЕНИЕ

Пентоксифиллин (ПФЛ), применяется в медицинской практике при нарушениях периферического кровообращения (энтерит, болезнь Рейно и др.), цереброваскулярной патологии (атеросклеротические нарушения, ишемические состояния, после перенесенного инфаркта и др.), сосудистой патологии глаз, диабетической нефроангиопатии и других диабетических ангиопатиях, функциональных нарушениях слуха.

Для количественного определения ПФЛ в литературе описаны различные методы.

По Европейской Фармакопее, также как и по Британской, ПФЛ (навеску 0,200 г одной пробы) растворяют в 5 мл безводной уксусной кислоты, добавляют 20 мл уксусного ангидрида. Титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты, конец титрования определяют потенциометрически [1, 2]. Описанный метод применяется для определения ПФЛ в индивидуальном виде (субстанции), однокомпонентных лекарственных формах (таблетках,

растворах, инъекционных растворах).

Недостатком этого метода является низкая избирательность и трудоемкость анализа, низкая чувствительность и как следствие - большой расход исследуемого вещества на одно титрование (200 мг).

Известны методы спектрофотометрического определения ПФЛ в лекарственных формах [3, 4].

Они заключаются в растворении испытуемого образца в воде и разведении до определенной концентрации с последующим измерением оптической плотности полученного раствора при 274 нм относительно воды. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца ПФЛ.

Недостатками этих методов являются низкая избирательность вследствие невозможности одновременного определения нескольких соединений без пробоподготовки или специальных приемов и возможность использования лишь для объектов с известным составом, где отсутствуют вещества с похожим или перекрывающимся УФ-спектром.

В литературе описан фотометрический метод определения ПФЛ [5], который заключается в окислении ПФЛ избытком йода в присутствии щелочи с последующим определением непрореагировавшего йода и проведением контрольного опыта. Описываются два варианта определения оставшегося йода (варианты А и В).

Определение йода по варианту А заключается в использовании растворов п-Н-метиламинофенола и изониазида. Оптическую плотность полученных окрашенных растворов измеряют при λ_{max} 620 нм. Раствором сравнения служит дистиллированная вода. Одновременно проводят контрольный опыт.

По варианту Б непрореагировавшего йода определяют с помощью раствора красителя шерстяного синего и измеряют оптическую плотность при длине волны 540 нм.

Данный способ имеет ряд существенных недостатков:

- применение йода в качестве реагента-окислителя (йод является летучим веществом и возможны его потери (испарение) при протекании реакции в течение 5 мин при 45-50°C; йодид-ионы окисляются кислородом воздуха);

- недостаточная специфичность проводимой цветной реакции, т.к. применяемые реактивы имеют окраску;

- низкая чувствительность (680 и 16 мкг для варианта А и В, соответственно);

- невысокая селективность (присутствие в пробе веществ с восстановительными свойствами приведет к ошибкам при определении);

- относительная трудоемкость: применение шести химических реактивов и проведение контрольного опыта;

- короткое время устойчивости окрашенного соединения (до 20 минут), что будет затруднять проведение серийных анализов.

Цель настоящей работы – разработка новой цветной реакции и способа более простого, доступного и экономичного в расходовании анализируемого вещества, позволяющего повысить чувствительность, точность и селективность определения ПФЛ в индивидуальном виде и в лекарственных формах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали фармацевтические субстанции фармакопейной чистоты. Для приготовления рабочих растворов использовали бидистиллированную воду. Рабочий раствор гипохлорита натрия с концентрацией $1,35 \times 10^{-2}$ М готовили разбавлением реактива, полученного по описанной ранее методике [6]. Растворы хранили в склянках

из темного стекла, концентрацию гипохлорита контролировали йодометрически.

Для создания рН реакционной среды использовали растворы кислоты хлороводородной 0,1 М и натрия гидроксида 0,1 М. Оптическую плотность замеряли на спектрофотометре СФ-46, спектры поглощения снимали на регистрирующем спектрофотометре Specord 250.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для разработки простой, доступной, высокочувствительной методики количественного определения пентоксифиллина были использованы экспериментальные результаты изучения кинетики реакции окислительного превращения пентоксифиллина под действием гипохлорит-ионов [7]. В ходе данной работы были изучены различные факторы, влияющие на выход окрашенных продуктов реакции.

Влияние рН среды на ход реакции изучали, используя 0,1 н. раствор хлороводородной кислоты. Было установлено, что максимум оптической плотности, соответствующий наибольшему выходу конечного продукта реакции, наблюдается при добавлении к реакционной смеси от 1 мл 0,1 н. раствора HCl.

Влияние концентрации гипохлорита. Исследовали влияние концентрации гипохлорита в диапазоне от 0,1 мг/мл до 1,6 мг/мл. Оптимальной была найдена концентрация 0,9-1,1 мг/мл, в пределах которой оптическая плотность достигает максимума, соответствующая максимальному накоплению конечного продукта.

Влияние концентрации фенола. В ходе исследований использовали 6% раствор фенола. Изучали влияние концентрации этого реагента в области от 1,2 мг/мл до 9,6 мг/мл. Оптимальной для проведения реакции на пентоксифиллин была концентрация фенола 4,8-9,6 мг/мл, в пределах которой оптическая плотность достигает максимума и практически не изменяется.

Влияние температуры и времени взаимодействия с реагентами. Изменяя время взаимодействия пентоксифиллина с гипохлоритом в диапазоне от 5 с до 20 мин при условии постоянства всех остальных условий, было выбрано оптимальное время – 5 мин, при оптимальной температуре 23°C.

Аналогично выяснили оптимальное время взаимодействия реакционной смеси с фенолом: 20-25 минут при температуре 60°C.

Таким образом, была разработана методика определения пентоксифиллина фотометрически.

трическим методом.

Методика определения пентоксифиллина. Готовят раствор путем растворения 15 мг пентоксифиллина в очищенной воде в колбе на 50 мл. Отмеривают 0,6 мл приготовленного раствора пентоксифиллина (180 мкг), помещают в пробирку, добавляют 1,0 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной, воды очищенной до 6,5 мл. Затем в пробирку быстро добавляют 1,0 мл 1%-го раствора гипохлорита натрия, перемешивают и термостатируют реакционную смесь при температуре 23°C. Через 5 минут в пробирку быстро приливают 1,0 мл 6%-го раствора фенола и 1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида. Содержимое пробирки хорошо перемешивают и помещают в водяную баню ($t=55\pm5^\circ\text{C}$) на 20 мин. Затем пробирку со смесью охлаждают и измеряют оптическую плотность полученного окрашенного раствора при длине волны 630 нм (полученный окрашенный раствор устойчив при стандартных условиях в течение нескольких суток). Раствором сравнения служит смесь реактивов без определяемого вещества. По величине оптической плотности окрашенного раствора находят содержание ПФЛ в исследуемом растворе из градуировочного графика для ПФЛ или по формуле:

$$C_x = \frac{D_x \times C_{\text{ст}}}{D_{\text{ст}}}, \text{ где}$$

C_x – содержание ПФЛ в анализируемой пробе, мкг;

D_x – оптическая плотность анализируемой пробы;

$D_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартного раствора;

$C_{\text{ст}}$ – содержание ПФЛ (мкг) в пробе стандартного раствора.

Стандартный раствор ПФЛ готовят путем растворения 15 мг ПФЛ в очищенной воде в мерной колбе на 50 мл. Определенные объемы стандартного раствора в пределах 0,1-1,4 мл переносят в пробирки, добавляют 1,0 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной, воды очищенной до 6,5 мл. Затем в пробирку быстро добавляют 1,0 мл 1%-го раствора гипохлорита натрия, перемешивают и термостатируют реакционную смесь при температуре 23°C. Через 5 минут в пробирку быстро приливают 1,0 мл 6%-го раствора фенола и 1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида. Содержимое пробирки хорошо перемешивают и помещают в водяную баню ($t=55\pm5^\circ\text{C}$) на 20 мин. Затем пробирку со смесью охлаждают и измеряют оптическую плотность полученного окрашенного

раствора при длине волны 630 нм. Раствором сравнения служит смесь реактивов без определяемого вещества.

По разработанной методике с учетом оптимальных условий были проведены контрольные определения пентоксифиллина в модельных растворах, по результатам которых затем построили градуировочный график. Полученные результаты обработали статистически, данные представлены в таблице 1.

Подчинение основному закону светопоглощения наблюдается в широком интервале в пределах 3,0-30,0 мкг в 1 мл конечного объема реакционного раствора (10 мл). Открываемый минимум ПФЛ составляет 0,32 мкг/мл. Метрологическая характеристика указывает на хорошую воспроизводимость и точность определения ПФЛ на основе исследованной реакции.

Способ может быть использован для определения пентоксифиллина в ампульных растворах и в таблетках, наполнители и стабилизаторы не мешают определению основного вещества. Разработанная методика была апробирована для определения пентоксифиллина в готовых лекарственных средствах: таблетках «Пентоксифиллин 100 мг № 10» (серия 120808), «Пентоксифиллин, раствор для инъекций 2% 5 мл № 10» (серия 1160708), выпускаемых на Борисовском заводе медицинских препаратов, капсулах «Пентоксифиллин-МИК 200 мг № 50» (серия 1020309) производства УП «Минскинтеркапс». Полученные результаты указывают на хорошую воспроизводимость и точность определения пентоксифиллина предлагаемым способом, относительная ошибка определения не превышает 1%.

При исследовании возможности определения пентоксифиллина в таблетках «Диклопентил» производства РУП «Белмедпрепараты» (состав: диклофенака натрия – 50 мг; пентоксифиллина – 100 мг) оказалось, что раствор диклофенака натрия при взаимодействии с гипохлорит-ионами приобретает устойчивое желтое окрашивание в присутствии пентоксифиллина. Это наблюдение послужило основой для разработки способа идентификации диклофенака натрия и пентоксифиллина в одной пробе без предварительного разделения.

Метод УФ-спектрометрии не позволяет идентифицировать диклофенак и пентоксифиллин при совместном присутствии, так как их максимумы очень близки (276 и 274 нм, соответственно).

Известен способ испытания на подлинность диклофенака и пентоксифиллина в одной пробе методом ВЭЖХ [8]. Однако этот

Таблица 1 – Результаты количественного определения пентоксифиллина на основе разработанной реакции

Взято ПФЛ, мкг/10мл	Найдено ПФЛ, мкг/10мл	Метрологические характеристики				
		\bar{X}	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	$\varepsilon_{0,95}$
80	80,65	80,06	0,17782	0,42168	0,17215	0,55
-«-	79,58					
-«-	80,43					
-«-	79,80					
-«-	80,16					
-«-	79,75					
180	180,53	180,12	0,43990	0,66325	0,27077	0,39
-«-	180,87					
-«-	179,78					
-«-	179,14					
-«-	180,64					
-«-	179,77					
240	239,03	239,97	0,49962	0,70684	0,28856	0,31
-«-	239,33					
-«-	240,57					
-«-	239,70					
-«-	240,55					
-«-	240,63					

Примечание:

\bar{X} – средний результат определения;

S^2 – дисперсия (сходимость);

S – стандартное отклонение (воспроизводимость);

$S_{\bar{x}}$ – стандартное отклонение среднего результата определения

$\varepsilon_{0,95}$ – точность определения

способ имеет ряд недостатков: длительность проведения анализа; высокая стоимость оборудования и реактивов; требуется специальное техническое оснащение и применение дефицитных химических реактивов (хлорная кислота, ацетонитрил, триэтиламин); токсичность используемых растворителей; потребность в высококвалифицированных специалистах.

В литературе [9] описаны способы определения подлинности диклофенака и пентоксифиллина по качественным цветным реакциям:

для определения подлинности диклофенака натрия: с серебра нитратом (белый осадок), с железа (III) хлоридом (желто-коричневый осадок), с меди (II) сульфатом (светло-зеленый осадок), с кислотой серной концентрированной (малиновое окрашивание), с калия дихроматом, с натрия нитритом, с калия перманганатом, с калия йодатом, с реактивом Марки, с кислотой хлористоводородной;

для определения подлинности пенток-

сифиллина: мурексидная проба (пурпурно-красное окрашивание), с танином (белый осадок), с йодом в среде кислоты хлористоводородной, с реактивом Зонненштейна (белый осадок), с реактивом Шейблера (белый осадок), с реактивом Драгендорфа (желтый осадок).

Однако, многие реактивы являются сложными и дефицитными и не позволяют определять диклофенак натрия и пентоксифиллин в одной пробе без предварительного разделения.

Таким образом, критический анализ литературы показывает, что разработка простого, доступного, экспрессного, высокочувствительного, унифицированного и быстрого способа определения подлинности диклофенака натрия и пентоксифиллина при их совместном присутствии в смеси, не требующего специального оборудования и высококвалифицированных специалистов представляет интерес и является актуальной задачей.

На основании проведенных исследований подобраны оптимальные условия и раз-

работана методика идентификации диклофенака натрия и пентоксифиллина в смеси без предварительного разделения на примере таблеток «Диклопентил».

Методика. 0,280 г порошка тщательно растертых таблеток «Диклопентил» (с содержанием диклофенака натрия и пентоксифиллина по 50 и 100 мг, соответственно) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и добавляют 40 мл воды. Процесс растворения проводят при помешивании в течение 1-2 минут. Затем доводят объем колбы водой до метки, перемешивают, дают отстояться и фильтруют через бумажный складчатый фильтр. Для определения отмеривают 1 мл полученного раствора, к пробе прибавляют воды до 10 мл общего объема, прибавляют 1,0 мл 0,1 М раствора кислоты хлороводородной, затем прибавляют 1 мл 1 %-го раствора натрия гипохлорита. Перемешивают и нагревают до 70°C.

Если в исследуемой пробе присутствует диклофенак натрия, то появляется желто-оранжевое окрашивание (таблица 2, проба 1).

Затем к этой же пробе прибавляют 1 мл 6 %-ного раствора фенола и 1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и продолжают нагревать содержимое пробирки до 70°C.

Если в исследуемом препарате присутствует пентоксифиллин, то через 1 минуту появляется темно-синее окрашивание, которое приобретает максимальную устойчивую окраску через 3 минуты (таблица 2, проба 2).

Время одного анализа составляет 5 минут.

Образование окрашенного продукта в результате реакции натрия гипохлорита с диклофенаком натрия в присутствии кислоты хлороводородной может быть представлено следующим образом (схема I).

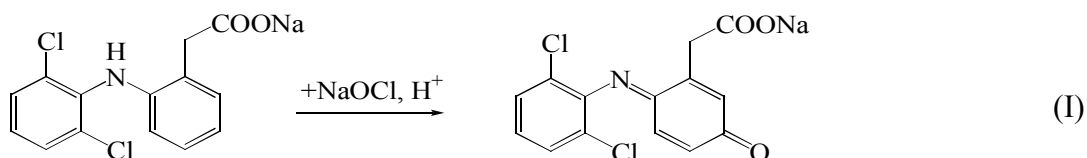
Окрашенный продукт имеет характерный спектр поглощения в видимой области с максимумом при 461 нм (рисунок 1), что и определяет желто-оранжевую окраску раствора.

Предварительно было исследовано влияние разной концентрации сопутствующих веществ. Установлено, что их присутствие в количествах, значительно превышающих те, которые обычно встречаются в рецептуре, не мешает проведению реакции, что позволяет определять подлинность диклофенака натрия и пентоксифиллина в одной пробе без отделения сопутствующих компонентов. Определению диклофенака натрия не мешают пентоксифиллин, теofilлин, кофеин, ацикловир, антипирин, дипрофиллин, теобромин, дибазол, тиамин, папаверин, димедрол, ацетилсалициловая кислота, натрия бензоат, аскорбиновая кислота, терпингидрат и др. Определению пентоксифиллина не мешают дибазол, тиамин, папаверин, димедрол, ацетилсалициловая кислота, натрия бензоат, аскорбиновая кислота, кодеина фосфат, терпингидрат и др.

Предложенный способ является простым, доступным и негромоздким в выполнении; не требует наличия стандартных об-

Таблица 2 – Результаты исследования

Испытуемый раствор, с содержанием	Наблюдаемая окраска раствора при добавлении		Результаты определения	
	кислоты хлороводородной и натрия гипохлорита	фенола и натрия гидроксида	диклофенак натрия	пентоксифиллин
диклофенака натрия (проба 1)	желто-оранжевая	желто-оранжевая (не меняется)	+	–
пентоксифиллина (проба 2)	бесцветная	темно-синяя	–	+
диклофенака натрия и пентоксифиллина (проба 3)	желто-оранжевая	темно-синяя	+	+



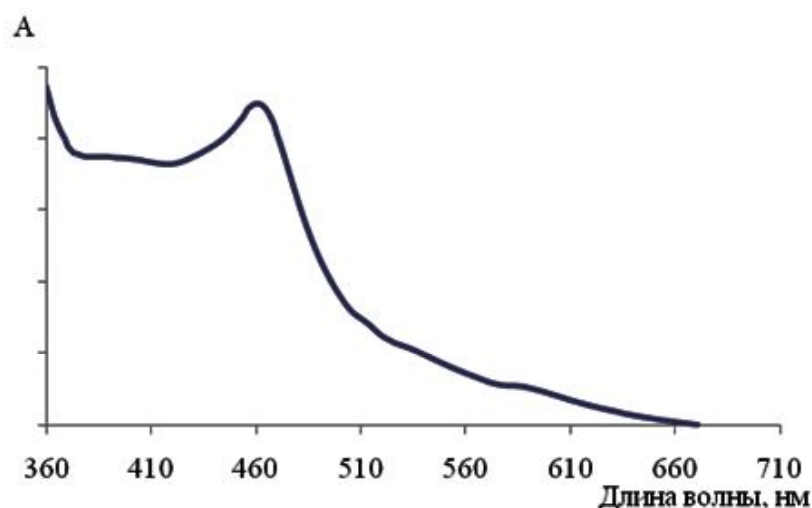


Рисунок 1 – Спектр поглощения окрашенного продукта реакции диклофенака натрия с натрия гипохлоритом в видимой области

разцов; не требует наличия специального дорогостоящего оборудования и реактивов; не требует для проведения анализа наличия высококвалифицированных специалистов, имеет высокую избирательность.

Методика была апробирована на заводе РУП «Белмедпрепараты» и принята для внедрения.

На данном этапе изучается возможность количественного определения пентоксифиллина и диклофенака натрия в смеси на основе предлагаемого способа идентификации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработаны оптимальные условия проведения реакции окисления пентоксифиллина гипохлорит-ионами, позволяющие качественно и количественно определять пентоксифиллин. Методика обладает высокой чувствительностью, хорошей селективностью и апробирована в анализе готовых лекарственных форм.

2. Разработанный способ экспресс-идентификации диклофенака натрия и пентоксифиллина может быть использован для определения подлинности этих веществ, как при совместном присутствии так и по отдельности, при этом наполнители и стабилизаторы не мешают определению основных веществ.

SUMMARY

G.Ju. Chaly, V.P. Heidorov
THE DEVELOPMENT OF TECHNIQUES
OF THE IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE
DEFINITION OF PENTOXIFYLLINE IN PHARMACEUTICALS

Optimum conditions are defined and the simple, accessible, high-sensitive photometric

technique of quantitative definition of pentoxifylline in the substance and commercial formulations was developed. This technique has been approved in the analysis of tablets, capsules and solution for injections.

During experimental researches it was revealed, that diclofenac sodium with hypochlorite-ions gives specific reaction of formation of steady colouring. This supervision has formed a basis for development of identification diclofenac sodium and pentoxifylline in one test without preliminary division. The offered method is simple, accessible and not bulky in performance, does not demand presence of standard samples, presence of the special expensive equipment and reagents; does not demand for carrying out of the analysis the presence of highly skilled experts.

Keywords: identification, quantitative assay, pentoxifylline, diclofenac sodium.

ЛИТЕРАТУРА

1. European Pharmacopoeia, 2006.
2. British Pharmacopoeia, 2001, Volume I.
3. ФС РБ 0519-09. Пентоксифиллин, раствор для инъекций 2 %.
4. Аналитическая нормативная документация АНД Р.10.02/05407. Пентоксифиллин, таблетки.
5. Sastry, C.S. Determination of pentoxifylline in pharmaceutical formulations using iodine as oxidizing agent/ C.S. Sastry, P.Y. Naidu. // Talanta. – 1998. – Vol.46. № 6. – P.1357-1362.
6. Heidorov, V.P. Oxidation of 1,3,7-trimethylxanthine by hypochlorite ion / V.P. Heidorov [et al.] // Russian Journal of Physical Chemistry A, Focus on Chemistry. – 2011. –

Vol. 85, № 8. – P. 1358-1362.

7. Чалый, Г.Ю. Уникальные химико-биологические свойства гипохлорит-ионов и их применение / Г.Ю. Чалый, В.П. Хейдоров // Вестник ВГМУ. – 2011. – № 3. – С. 178-187.

8. ВФС РБ 1120-07. Таблетки «Диклопентил» кишечнорастворимые.

9. Беликов, В.Г. Фармацевтическая химия. – Пятигорск, 2008. – 616 с.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра общей, физической
и коллоидной химии,
тел. раб.: 8 (0212) 37-23-24
Чалый Г.Ю.

Поступила 07.09.2011 г.